

ANN 在发酵过程中的应用*

李 冰 郭祀远 李 琳 邹 辉

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州, 510640)

摘 要 人工神经网络具有非线性的自适应的信息处理能力, 已广泛地用于化工、通信等领域。文中综述了 ANN 在发酵过程的仿真与预测、错误诊断、自动控制和配方优化等方面的应用。在此基础上, 对 ANN 在发酵工业中的应用前景进行了展望。

关键词 人工神经网络 发酵 仿真 控制 错误诊断

人工神经网络 (Artificial Neural Network, ANN) 简称 ANN, 神经网络部分结构和功能, 是由多个非常简单的处理单元按某种方式相互连接而形成的计算系统, 具有学习、记忆、联想和计算功能。它可以有效地对模型不确定的数据进行大规模非线性自适应信息处理, 自动调节不同类型的非线性响应, 是一种新型的黑箱方法。大约在 20 世纪 90 年代, ANN 才应用到发酵过程。由于其对处理非线性非稳态系统独特的特性, 受到科学研究者的注意, 在短短的 10 年间 ANN 在发酵过程的应用已越来越广。简单介绍了 ANN 的基本原理, 并综述了 ANN 在国内外发酵工业应用的情况, 在此基础上对 ANN 在发酵工业中的应用前景进行了探讨。

1 ANN 简介

ANN 是由大量处理单元——神经元广泛互连而成的网络。与传统的处理方法不同, 网络的信息处理是由神经元之间的相互作用来实现。它反映了人脑功能的许多基本特性, 但它并不是人脑 ANN 的真实写照, 而只是对其作某种简化、抽象和模拟, 是数学、计算机、神经生理学等众多学科相结合的产物, 典型的 ANN 结构见图 1。对于输入信号, 要先向前传播到隐层节点, 经过作用函数之后, 再将隐层节点的输出信息传播到输出

节点, 最后给出输出结果。

ANN 属于一种新型的黑箱方法, 与传统的线性或非线性回归方法相比, 它具有下列优点 (1) ANN 具有学习能力 (2) ANN 是一个真正的多输入多输出系统 (3) ANN 是一种复杂非线性系统, 在其中可以观察到分叉、混沌等典型的非线性现象, 对于强非线性系统具有较好的处理性能, 包括仿真、优化和控制 (4) ANN 属于一种并行运算系统, 与串行运算相比, 具有高得多的运算速度, 响应时间很短, 可以满足在线仿真、在线优化、自适应控制的需要。

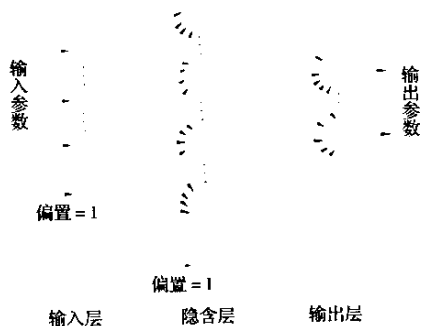


图 1 典型 ANN 的结构

2 ANN 在发酵过程中的应用

2.1 过程仿真与预测

2.1.1 抗生素的生产过程

抗生素是微生物次级代谢的产物, 是产

第一作者: 博士, 讲师。

* 广东省重点科技攻关项目(No. 99M01409G)和自然科学基金(No. 29876013)资助项目

收稿时间 2003-03-17

生菌在一定条件下利用各种养料通过自身产生的酶作用合成的。抗生素的生产过程一般都由三级发酵组成,以分批补料培养为特征,控制的目的是为菌体生长和抗生素合成提供适宜的外部条件,在工业生产中必需准确控制微生物的生长才能得到所需要的产物。

土霉素(oxytetracycline)是 *Streptomyces rimosus* 的次生代谢产物,土霉素对其产生菌来说是有毒性的,随着发酵过程的进行,土霉素的生成速度会减慢,最后停止,这时应及时停止发酵,分离出土霉素。但是由于缺乏在线的土霉素浓度,削弱了对整个发酵过程的控制。Jalel 等^[1]提出用 ANN 预测土霉素的浓度,他们经分析确定了 2 种营养成分碳源与氮源的流加速度 F_1 和 F_2 作为 ANN 的主要输入参数,输出为土霉素的浓度,隐含层有 6 个神经元。他们以不同的输入参数设计了 3 种网络结构 (1) $F_1(t), F_2(t)$ (2) $F_1(t), F_2(t), F_1(t-1), F_2(t-1)$ (3) $F_1(t), F_2(t), t_0$ 。发现,采用第 3 种 ANN 结构对土霉素的预测效果比其他 2 种要好。Tsaptsinos 和 Leigh 认为只选用碳源与氮源的流加速率作为网络的输入参数是不够的,又选择了另 5 个变量: pH、罐压、输入功率、培养基质量、 CO_2 释放率,采用多层感知器来估算土霉素的浓度。以这 7 个变量的当前值、前 2 个时刻的值,以及土霉素浓度前 2 个时刻的值共 23 个参数作输入神经元,构建了一个 23-10-1 的多层感知器。当以线性函数为输出层的转移函数,学习率为 0.4 时,感知器模型能很好地反映土霉素的发酵过程^[2]。

青霉素的发酵过程中,要获得最大的青霉素产率就需及时调整生物量浓度,但是实际操作中生物量浓度很难在线测量,离线测量不能满足及时优化流加策略的要求。Massimo 等^[3]采用 ANN 的方法,通过可在线测量的参数在线预测生物量和青霉素浓度。以碳源流加速度、氮源流加速度、 CO_2 释放率和发酵时间作为输入,菌体生物量为输出,构建一个 4-6-6-1 的 ANN,应用此 ANN 能很好

预测菌体生物量。在此基础上,以菌体生长速率、生物量和发酵时间为输入,青霉素浓度为输出,构建的 3-4-4-1 的 ANN 能反映发酵过程中青霉素生成的情况。方柏山和胡宗定用基于 Δ 规则和最速下降法的反向传播算法构建了一个能够超前 1 h 预测青霉素补料分批培养状态变化的 ANN 模型。当网络拓扑结构为 5-3-5-3,所得到的模型能够很好地描述青霉素补料分批培养过程^[4]。

先锋霉素也是一种重要的抗生素,但迄今为止,还没有描述先锋霉素发酵过程的动力学模型,因此采用 ANN 方法近似仿真这一过程,对优化过程和获得最大先锋霉素产量是十分有意义的。Vivarelli 等^[5]采用的 BayesianANN 来描述先锋霉素的发酵过程。BayesianANN 不仅能很好地预测先锋霉素的浓度,大约 88% 的样本的相对误差在 0.05 左右,而且提供预测误差以及输入参数的相关性,对从机理上阐述先锋霉素的生成过程提供了基础。

洁霉素发酵生产中,高勇峰等^[6]以菌体浓度、还原糖浓度和氨基氮浓度为输入,补糖量、补氨水量和补硫酸氨量为输出,构建一个 3-9-3 的 BP 网络,并结合遗传算法进行训练,建立了补料量与离线分析值之间的关系,用以指导生产。姬宪法等^[7]对洁霉素不同的发酵阶段分别建模,以满足产生菌不同生长阶段对补料量的要求。在发酵中期,以还原糖浓度和氨基氮浓度为输入,补糖量和补硫酸氨量为输出,构成 2-8-2 的 BP 网络;在发酵后期,以 pH、还原糖浓度和氨基氮浓度为输入,补糖量、补氨水量和补硫酸氨量为输出,构建一个 3-12-3 的 BP 网络。经检验,网络的模拟精度较高。

2.1.2 酒类的发酵生产过程

啤酒发酵生产中产生的乙酸乙酯虽然含量少,但是对啤酒的风味起到很大的作用,至今还没有动力学方程描述乙酸乙酯的产生。ANN 则是模拟乙酸乙酯产生过程的一个有效方法,将发酵时间、菌体干重、糖浓度、氨基

酸浓度和 pH 值作为网络的输入,乙酸乙酯的浓度作为网络的输出,利用实验室数据进行学习,网络模型能很好反映乙酸乙酯的生成情况。不仅如此,将此网络运用到工业生产中,乙酸乙酯浓度的预测值与实际生产测量值也十分吻合^[8]。

在啤酒发酵中,麦芽汁密度、乙醇浓度和 CO₂ 释放量是监测、控制和优化发酵过程的重要变量,而这些参数只有 CO₂ 释放量是在线可测,其他 2 个变量的值可通过一些线性方程由 CO₂ 释放量计算而得。因此,如果能预测 CO₂ 释放量,对监控发酵过程很有帮助。拓扑结构为 4-3-1 的前向型 ANN,以当前温度、当前 CO₂ 释放比率、当前压力和酵母初始浓度为输入,可预测 5 h 后 CO₂ 释放比率,预测精度达 5%^[9]。

在葡萄酒发酵生产中,只能在线检测 CO₂ 释放的总量,对 CO₂ 释放速率则不能在线得到。CO₂ 释放速率是提高对葡萄酒发酵过程监控的一个重要变量。Cleran 等^[10]考虑了 CO₂ 释放速率延时值以及 CO₂ 释放总量的当时值与延时值,同时利用 ANN 法与数据组成处理法(GMDH)对 CO₂ 释放速率进行预测,发现,ANN 的预测模型比 GMDH 模型要准确。ANN 预测模型可预测 16 h 后的 CO₂ 释放速率。

2.1.3 酵母的生产过程

发酵生产酵母是常见的典型工业发酵过程,如果发酵条件变化就会有不同产物,在有氧发酵时得到的酵母生物量,若缺氧时得到就是酒精。所以,对发酵过程仿真及预测十分重要。目前,ANN 在流加补料发酵生产酵母中应用较多,Petrova 等^[11]比较了前向型网络与带延时的前向型网络对葡萄糖为限制性底物的酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 流加补料发酵过程中的生物量浓度与残糖浓度预测能力,输入为酵母生物量浓度、残糖浓度和稀释率的当前值,前向型网络不能适应发酵过程输入参数动态的变化,而加入了生物量浓度与残糖浓度延时信号的延时前向型网络则

能容纳这些动态变化,能更精确地预测酵母生长过程。Raju 和 Cooney^[12]采用了比较复杂延时前向型 ANN,输入是前 3 个时刻的信息,共有 21 个输入参数,输出参数有 16 个,反映酵母发酵过程所有可能的状态。将这个复杂网络分解成 3 个子网络,分别完成任务:(a)鉴别酵母的生长阶段;(b)监测不正常的代谢;(c)错误诊断。这种分解任务的方法可提高网络的泛化准确度。Barrera-Cortes 和 Baruch^[13]用动态性能更好的反馈 ANN 模拟酵母的发酵过程,以酵母生物量、基质浓度、发酵液体积和产物浓度作为输入参数,这 4 个变量的下一时刻值作为输出,构成了 4-8-4 的网络,既有全局反馈也有部分反馈,网络的训练均方差在 1.5%~2.2%之间。

2.1.4 氨基酸的生产过程

氨基酸在食品、化妆品、医药等领域都有广泛的应用,发酵法是生产氨基酸的主要方法。工业生产赖氨酸是以 *Brevibacterium flavum* 为产生菌进行流加发酵的。在线可测或可计算出的参数包括:温度、pH、溶氧、气体流量、消耗的 O₂ 和 CO₂、碱的消耗量、消泡剂的消耗量、发酵液体积、氧利用速率(OUR)、CO₂ 释放速率(CER)、呼吸熵(RQ)、流加速率,Zhu 等^[14]对这些变量进行不同的组合作为 ANN 的输入,列举了 10 种能成功用于模拟与预测的 ANN 拓扑结构。苗志奇等^[15]在模拟谷氨酸流加发酵过程时,采用含 2 个隐含层的 ANN。网络输入变量由发酵过程的初始状态参数(pH 值、糖浓度、溶氧、尿素浓度),18 个固定时刻的尿素流加量和发酵时间共 23 个参数组成,网络输出变量为谷氨酸的浓度,2 个中间隐含层的神经元单元数分别为 27,13。由于输入参数过多,在输入层与第一隐含层间增加了能压缩数据、起过滤数据作用的瓶颈结构。当网络经过 5 万次训练后,训练误差达到 1%,用未经网络训练的样本进行预测,结果也显示了较高的预测精度。

2.1.5 酶的生产过程

酶的工业化生产过程中一个重要的控制关键是预测酶的活力达到高峰和停止发酵的时刻。葡萄糖淀粉酶是由 *Aspergillus niger* 发酵淀粉质培养基而得。Linko 和 Zhu^[16] 对葡萄糖淀粉酶的酶活力与菌体生物量进行实时模拟和超前两步的预测,确定了氧气利用率、CER、pH、搅拌速率、累积 CO₂ 释放率、累积氮利用率是与生物量浓度和酶活力密切相关的变量。当实时模拟酶活力与生物量浓度时,只需简单的 3 层 ANN,以上述的 6 个变量为输入,生物量浓度和酶活力为输出,隐含层含 10 个神经元。ANN 的模拟值与离线分析测定值很接近。

2.1.6 木糖醇的生产过程

目前,用发酵法生产木糖醇是一种新的方法,木糖醇分批或补料分培养过程中,随着木糖的消耗,木糖醇会进一步转化为木酮糖,因此适时终止发酵过程是提高木糖醇得率的一个关键因素。因此,用 ANN 描述木糖醇发酵过程,实时估算或预测木糖醇浓度,是提高木糖醇得率及实时控制发酵过程的一种新手段。方柏山等^[17]运用广义对数方程拟合木糖醇发酵过程的各参数值,借助均匀设计法寻找 ANN 的最佳隐层单元数,经检验,它能很好实现在线状态估计和提前一步预测木糖醇浓度。

2.2 发酵过程中的错误诊断

在生物发酵过程中,微生物的生长与内部的新陈代谢容易受到环境因素的影响,特别是基因工程菌对环境变化极为敏感,如果生产条件偏离了预先设定的最佳条件,就会影响其内部的代谢过程,有可能得不到所要求的产物。另外,如果发酵过程中操作不当,使过程感染了杂菌,杂菌不仅要消耗培养基中的营养成分,与产生菌争夺营养,而且杂菌还会产生某些有害于产生菌生长和代谢的物质,进而使生产率下降,甚至得不到产品。所以,及时地诊断及预测发酵过程中的错误是十分重要的,针对不同情况采取适当的措施,尽可能减少影响和损失。ANN 模型反

映了发酵过程中在线可测量的参数(如:温度、pH、溶氧、CO₂ 产生率、流加速率等)与不可在线测量的参数(如:菌体的生物量、产物浓度等)的关系,向 ANN 输入可测量的操作参数,就能较为准确地估计菌体生物量、产物浓度等状态参数。如果 ANN 估算的状态参数值与离线实测值有较大偏差,这时就需检查发酵操作,看是否出现操作错误、仪器失效或感染杂菌等错误。一个 ANN 用于错误诊断很好的例子是青霉菌发酵生产中的错误诊断。Massimo 等^[18]建立了一个 4-6-6-1 结构的 ANN,经过训练后 ANN 模型能很好预测青霉菌产生菌(*Penicillium chrysogenum*)的浓度。将 3 组存在着操作错误的输入数据输入 ANN 对菌体浓度进行估算,分析预测值与实测值出现很大的偏差的原因,从而判断是仪器出错还是感染了杂菌。对连续发酵 *Fusarium graminearum* 生产菌蛋白的过程,Massimo-Peel 等^[19]建立了 3 个分别反映 CO₂ 释放率(CER)与菌体浓度的关系,稀释率与菌体浓度的关系,碱加入速率与菌体浓度关系的 ANN,用来同时预测菌体浓度。观察到在发酵了 296~307 h 间,CER/菌体浓度的 ANN 不能预测菌体浓度,而其他网络则工作正常,经对 CO₂ 分析仪进行检查,发现仪器出现问题。

2.3 发酵过程的自动控制

隋青美等^[20]运用非线性系统的线性化方法与 ANN 的在线辨识技术,提出了一种基于 ANN 的多变量自适应控制策略。提出的控制策略,当过程模型缺乏足够的先验知识时,对多变量非线性连续发酵过程取得良好的控制性能。采用小波 ANN 进行仿真实验,实验结果表明基于 ANN 的自适应控制方案能够控制非线性的多变量的发酵系统达到稳态精度较高,控制过程能够自适应过程模型的不确定性和时变性,具有较强的鲁棒性。相比之下,仅基于微分几何理论的输入输出线性化解耦控制方案,由于控制器的设计依赖于过程模型,应用在发酵过程的非线

性控制中,控制性能受参数变化影响较大,控制精度较低,鲁棒性较差。

青霉素酰基转移酶由 *Arthrobacter viscosus* 发酵产生,是(β -内酰胺抗生素工业重要的酶。在抗生素生产中青霉素酰基转移酶主要用来催化脱酰基反应。产生菌最适的 pH 为 7.0,但是发酵过程由一些酸的产生使得 pH 远低于 7.0,酸性的环境不利于产生菌生长,所以控制好 pH 对获得高的菌体生物量、高产量的青霉素酰基转移酶是十分重要的。Syu 和 Chang^[21]提出以反馈前向型 ANN(RBPN)作为自适应控制器模型,建立一个 4-4-1 的 RBPN,以控制蠕动泵流加酸碱的速度。RBPN 控制器先是根据已获得在线数据进行过程模拟,然后在学习的基础上对过程进行预测,并作出相应的动作。PBPN 控制器能很好地控制 pH 在 7.0,发酵结束时菌体生物量达到最大值。

Patnak^[22]采用二级 ANN 来调节链激酶生产中补料的速度,以提高链激酶的产量。一个自联合 ANN 过滤掉噪音和干扰,另一个前向型 ANN 作为控制器,控制补料速度。这种二级控制方式能有效提高产生菌的生物量和链激酶的活力,比 PID 控制器的效果要好。

此外,ANN 与模糊系统结合能更好地控制发酵过程,模糊-神经控制策略同时拥有 ANN 与模糊控制的优点。

2.4 配方优化

发酵过程机理复杂、影响因素众多。菌种的生理系列化特性及发酵的工艺确定之后,适宜的培养基配方成了发酵水平、原料成本高低的决定因素。如果能通过模型描述或预测培养基与产物浓度的关系,则可大大减少繁琐的实验工作量及缩短研究周期。

方柏山等^[23]对莫格假丝酵母(*Candida mogii* ATCC 18364)发酵木糖醇的培养基进行了优化。以发酵培养基中的 6 种主要成分 YE、PEP、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 的初始浓度为输入值,以发

酵终止时的木糖醇浓度为输出值,构建了 ANN 模型。所设计的培养基配方经摇瓶与发酵罐发酵的实验验证,发现大部分木糖醇浓度的 ANN 计算值与实测值的相对误差在 10% 范围内。ANN 模型能很好地描述发酵培养基与产物的关系,因此,只要已知培养基组成经 ANN 的计算便可预估木糖醇浓度。如果对培养基配方进行进一步的优化,便可找到能产生高浓度产物但成本却较低的培养基配方。

葡萄糖、蛋白胨和硫酸镁是酵母菌系 *Saccharomyces cerevisiae* CCRC 21727 生长和产生谷胱甘肽适宜的培养基成分。Liu 等^[24]利用 ANN 模型确定培养基的最佳配方。ANN 能预测不同浓度的培养基成分对菌体细胞干重和谷胱甘肽产量的影响,其预测结果与实验值相吻合,而且即使成分的浓度超出实验范围,ANN 模型仍能得到好的预测结果,但是如果成分浓度过高对细胞生长产生抑制作用,ANN 模型就会出错。

3 展 望

发酵过程是一个复杂的非线性和非稳态系统,ANN 所具有的处理非线性和非稳态的能力在发酵过程得到很好的发挥,在仿真、预测、控制和错误诊断的应用已有不少成功的范例。相信随着生物传感器技术的发展,可提供的发酵过程在线信息的增多,人工神经网络在发酵过程的应用将会越来越广泛。

参 考 文 献

- 1 Jalel N A, Tsaptsinos A R, Mirzai A R et al. Modelling the Oxytetracycline Fermentatin Process Using Multi-layered Perceptrons. Colorado: Modelling and Control of Biotechnology Process, 1992. 415~418
- 2 Tsaptsinos D, Leigh J R. Journal of Microcomputer Applications, 1993, 16: 125~136
- 3 Massimo C D, Montague G A, Willis M J et al. Computers Chemical Engineering, 1992, 16(4): 283~291
- 4 方柏山, 胡宗定. 生物工程学报, 1996(增刊):

- 215~218
- 5 Vivarelli F, Serra R, Agagliati E et al. Proceedings of the IEEE-INNS-ENNS International Joint Conference on Neural Network, 2000, 6: 279~284
 - 6 高勇峰, 张自强, 阎保定等. 洛阳工学院学报, 2000, 21(1): 50~52
 - 7 姬宪法, 肖隽亚, 朱永强等. 洛阳工学院学报, 2000, 21(4): 85~88
 - 8 Garcia L A, Argueso F, Garcia A et al. Journal of Industrial Microbiology, 1995, 15: 401~406
 - 9 Trelea I C, Titica M, Landaud S et al. Mathematics and Computers in Simulation, 2001, 56: 405~424
 - 10 Cleran Y, Thibault J, Cheruy A et al. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1991, 71(5): 356~362
 - 11 Petrova M, Koprinkova P, Patarinska T. Bioprocess Engineering, 1997, 16: 145~149
 - 12 Raju G K, Cooney C L. Using Neural Networks for the Interpretation of Bioprocess Data. Colorado: Modelling and Control of Biotechnical Processes, 1992. 425~428
 - 13 Barrera-Cortes J, Baruch I. Proceedings of the IEEE-INNS-ENNS International Joint Conference on Neural Network, 2000, 4: 589~594
 - 14 Zhu Y H, Rajalahti T, Linko S. The Chemical Engineering Journal, 1996, 62: 207~214
 - 15 苗志奇, 赵凌云, 元英进. 生物工程学报, 1998, 14(2): 198~202
 - 16 Linko P, Zhu Y H. Process Biochemistry, 1992, 27: 275~283
 - 17 方柏山, 谢晓兰, Sirisansaneeyakul S 等. 天津大学学报, 2000, 33(5): 607~609
 - 18 Massimo C D, Montague G A, Willis M J et al. Computers Chemical Engineering, 1992, 16(4): 283~291
 - 19 Massimo-Peel C D, Montague G A, Willis M J et al. Enhanced Industrial Bioprocess Monitoring Through Artificial Neural Networks. Colorado: Modelling and Control of Biotechnical Processes, 1992, 395~398
 - 20 隋青美, 王正欧. 信息与控制, 2002, 31(4): 371~374
 - 21 Syu M J, Chang C B. International Conference on Neural Network, 1997, 2: 639~644
 - 22 Patnaik P R. Process Biochemistry, 2001, 37: 145~151
 - 23 方柏山, 陈宏文, 谢晓兰等. 生物工程学报, 2000, 16(5): 648~650
 - 24 Liu C H, Hwang C F, Liao C C. Process Biochemistry, 1999, 34: 17~23

Application of Artificial Neural Network on Fermentation Industry

Li Bing Guo Siyuan Li Lin Zou Hui

(College of Food and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510640)

ABSTRACT Artificial neural network (ANN), with its unique abilities of non-linearly and adaptively processing data, has been widely used in the fields of chemical industry and communication industry. The application of neural network on fermentation industry, such as simulation and prediction, error diagnosis, automated control and formulation optimization, were reviewed in this paper. The prospect of ANN on fermentation industry was also discussed.

Key words artificial neural network, fermentation, simulation, control, error diagnosis



美国推出婴儿膳食配料浅盘包装

最近, 美国纽约的 Westraco 有限公司向市场推出了婴儿膳食包装浅盘。该包装采用双层可烘烤的纸板加工制成的船形浅盘, 具有 2~3 个食格, 膳食配料可变, 可保证食品丰富的营养。这种包装浅盘采取回转上盖热封, 其生产速度达 70 个/min。它不含金属成分, 在微波炉中烤热后, 双层结构可使其保温, 而且盘内一次未食完的剩余食品可保质 48h。该浅盘主要用于盛放水果、蔬菜、谷物以及以大豆为原料的各种婴儿配料食品等, 其热稳定性好, 符合环保要求, 且价格低于玻璃瓶。